



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA

**EFFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DEL *MYRCIARIA DUBIA*
“CAMU CAMU” SOBRE CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS*
AUREUS COMPARADO CON *OXACILINA***

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MEDICO CIRUJANO**

AUTOR:

JOSEPH AXEL FLORIÁN GÓMEZ

ASESORES:

Dra. SUSANA EDITA PAREDES DÍAZ

CO-ASESOR

Mblgo. CESAR ARELLANO SANCHEZ

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TROPICALES

TRUJILLO - PERU

2018

PÁGINA DE JURADO

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large circle with a vertical line through it, followed by a diagonal line and a small 'Z'.

DR. MANUEL BURGOS ZAVALA

Presidente

A handwritten signature in blue ink, featuring a large, flowing loop at the top and a series of smaller loops below.

DRA. RICCI PONCE DE LOPEZ

Secretaria

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, vertical loop with a small 'S' at the bottom.

DRA. SUSANA EDITA PAREDEZ DIAZ

Vocal

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso por su amor y bondad sin fin, quien supo guiarme por el buen camino y darme fuerzas para seguir adelante.

Lleno de entusiasmo, de amor y esperanza dedico esta tesis a cada uno de mis seres queridos, quienes han sido mis pilares para seguir adelante en vida.

Con mucho respeto y admiración a mis padres Luz Patricia Gómez Vejarano y Gerardo Efraín Florián Orchessi quienes, gracias a su apoyo incondicional, cariño, enseñanzas y consejos estoy logrando dar un paso más en mi futuro académico, a ellos que sin importar el momento o lugar estuvieron siempre presentes apoyándome, cuidándome y guiándome, este logro también es de ustedes.

A mis hermanos y familiares en general por el apoyo que siempre me brindaron día a día en el transcurso de mi carrera.

A mi novia Marlita Toro Astonitas por su apoyo incondicional, amor y respeto, por el sacrificio y esfuerzo dado día a día.

A mi asesora por el tiempo, dedicación y paciencia en la elaboración de mi tesis.

Joseph Axel Florián Gómez

AGRADECIMIENTO

A Dios por permitirme realizar este presente trabajo de tesis, por bendecirme y permitirme llegar hasta donde he llegado.

A la “Universidad Cesar Vallejo” de Trujillo, por darme la oportunidad de estudiar la carrera que siempre anhele y ser un buen profesional.

A la “Universidad Cesar Vallejo” sede Chiclayo, por permitirme realizar el desarrollo de mi trabajo experimental en el laboratorio de Biotecnología y microbiología. Al Ing. José Modesto Vásquez Vásquez (Director de la escuela de Ingeniería ambiental e Ingeniería agrónoma) y al Dr. Herry Lloclla Gonzales (Director de investigación) por brindarme el permiso y autorización para realizar mi trabajo de investigación.

A mi asesora de tesis, Dra. Susana Edita Paredes Díaz y coasesor Mblgo. Cesar Wilson Arellano Sánchez, por su gran esfuerzo y dedicación, quienes con su experiencia conocimiento, paciencia y motivación han logrado que logre terminar con éxito mi trabajo de tesis.

A mis docentes de la “Universidad Cesar Vallejo” de Trujillo Facultad de Ciencias Médicas, quienes durante mi carrera profesional han aportado con un granito de arena a mi formación y de alguna forma contribuyeron en la realización de este trabajo de investigación.

A mi familia quienes han formado parte de mi vida profesional, a los que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida.

Para ellos: Muchas gracias, éxitos y que Dios los bendiga.

Joseph Axel Florián Gómez

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Joseph Axel Florián Gómez, con DNI 48485922, a efectos de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela Profesional de Medicina, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompañan a la Tesis titulada “Efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con *Oxacilina*”, son auténticas y veraces.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, 04 de diciembre del 2018

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titula “Efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con *Oxacilina*”, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

Trujillo, 04 de diciembre del 2018

Joseph Axel Florián Gómez

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	v
PRESENTACIÓN.....	vi
ÍNDICE.....	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	10
1.1. Realidad Problemática.....	10
1.2. Trabajos previos.....	11
1.3. Teorías relacionadas al tema.....	14
1.4. Formulación del Problema.....	21
1.5. Justificación del Estudio.....	21
1.6. Hipótesis.....	22
1.7. Objetivos.....	22
II. MÉTODO.....	23
2.1. Diseño de Investigación.....	23
2.2. Variables, Operacionalización.....	25
2.3. Población y Muestra.....	27
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	28
2.5. Métodos de análisis de datos.....	39
2.6. Aspectos éticos.....	40
III. RESULTADOS.....	41
IV. DISCUSIÓN.....	46
V. CONCLUSIONES.....	51
VI. RECOMENDACIONES.....	52
REFERENCIAS.....	53
ANEXOS	

RESUMEN

Con el objetivo de determinar el efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” que tiene sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con la *Oxalicina*, se realizó una investigación con diseño experimental, con repeticiones múltiples, análisis factorial y estímulo creciente; la muestra estuvo conformada por 108 unidades muestrales que correspondieron a: 1 planta de “Camu camu”; 2 extracto etanólico (cáscara y hojas); 4 concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%) + Oxacilina (control positivo) + Agua destilada (control negativo); 3 cepas del *Staphylococcus aureus* y 3 repeticiones por cada cepa de *Staphylococcus aureus*. La técnica de recolección de datos fue la observación de campo y el instrumento una guía de observación; para el análisis de datos se trabajó con la estadística inferencial. Los resultados permitieron concluir que el extracto etanólico del *Myrciaria dubia* de cáscara al 75% y 100% y hoja al 50%, 75% y 100% tienen efecto antimicrobiano in vitro sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*, identificándose que a mayor concentración existe mayor efecto antimicrobiano, siendo el mayor halo de inhibición de 15mm, en la comparación del efecto antimicrobiano de la *Oxacilina* que obtuvo un promedio de 12.15mm y las concentraciones del 100% de cascara con 13.1mm y Hoja de 14.1mm concluyendo que el extracto etanólico del *Myrciaria dubia* tienen mayor efecto antimicrobiano in vitro sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con la *Oxacilina*. **Conclusión:** *Myrciaria dubia* si tiene efecto antimicrobiano in vitro sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* y mayor efecto comparado con la *Oxacilina*.

Palabras Clave: *Myrciaria dubia*, *Staphylococcus aureus*, *Oxacilina*.

ABSTRACT

In order to determine the in vitro antimicrobial effect of the ethanolic extract of the *Myrciaria dubia* "Camu Camu" which has over strains of *Staphylococcus aureus* compared to *Oxalicina*, an experimental design research was carried out, with repetitions multiple, factorial analysis and increased stimulus; The sample was formed by 108 muestréales units that corresponded to: 1 "Camu Camu" plant; 2 Ethanolic Extract (husk and leaves); 4 concentrations (25%, 50%, 75% and 100%) *Oxacilina* (positive control) distilled water (negative control); 3 strains of *Staphylococcus aureus* and 3 replicates for each strain of *Staphylococcus aureus*. The data collection technique was the field observation and the instrument an observation guide; For data analysis, we worked with inferential statistics. The results allowed to conclude that the ethanolic extract of the *Myrciaria dubia* of shell at 75% and 100% and leaf at 50%, 75% and 100% have in vitro antimicrobial effect on the strains of *Staphylococcus aureus*, identifying that at higher concentration there is greater Antimicrobial effect, being the largest inhibition halo of 15mm, in comparison of the antimicrobial effect of *Oxacilina* obtained an average of 12.15 mm and concentrations of 100% of shell with 13.1 mm and 14.1 mm sheet oncluding that the ethanolic extract of *Myrciaria dubia* have greater antimicrobial effect in vitro on the strains of *Staphylococcus aureus* compared with *oxacilina*. **Conclusión:** *Myrciaria dubia* if it has in vitro antimicrobial effect on the strains of *Staphylococcus aureus* and greater effect compared with *oxacilina*.

Key words: *Myrciaria dubia*, *Staphylococcus aureus*, *Oxacilina*.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Realidad Problemática

En la actualidad, se reconoce que existen múltiples enfermedades infecciosas que van desde moderadas a graves y que a éstas se les atribuye múltiples etiologías, a la vez se han identificado agentes etiológicos que producen frecuentemente infecciones mucho más severas en comparación a otros agente bacterianos y que con el pasar del tiempo han demostrado una alta capacidad de resistencia a diversas familias de antibióticos, dentro de estos se reconoce al *Staphylococcus aureus*, bacteria oportunista muy frecuente de causar enfermedades infecciosas en lactantes, niños, hospitalizados y comunitarias¹.

Su principal reservorio es el ser humano es por ello que existe una alta frecuencia de causar gran variedad de enfermedades infecciosas, con una incidencia del 14 a 30%, dentro de los cuales tenemos con mayor frecuencia los abscesos cutáneos, sepsis, endocarditis, meningitis, neumonía y shock séptico, para los cuales se les indica tratamiento antibiótico, pero en la actualidad han demostrado una adquisición de determinada resistencias antibiótica sobre todo a nivel hospitalario, para ello se ha visto necesario recurrir a la administración de antibióticos mucho más potentes y a la combinación de estos para ejercer mejor acción sobre estas cepas, dentro de los cuales encontramos la vancomicina, Oxacilina, rifampicina y fosfomicina, otros usados son gentamicina, amikacina, clindamicina, entre otros^{1, 2}.

Esta alta resistencia a diversos antibióticos ha despertado una gran discusión por la gran carga y cantidad de antibióticos potentes administrados a los pacientes para contrarrestar las enfermedades producidas por dicho agente, también se toma en cuenta los efectos adversos producidos por estos medicamentos y la contraindicación que se dan en algunos pacientes, por lo tanto afecta el nivel económico ya que se requiere de mayor cantidad de medicinas, mucho más potentes que tienen un valor regularmente elevado, para ello en la actualidad ha despertado mucha curiosidad en la medicina por encontrar una alternativa de tratamiento no convencional en este caso tenemos la medicina complementaria ya que son de menor costo y ayudan a tratar

diversas enfermedades, por ello despierta el saber que elementos naturales podremos usar como complemento para ayudar a tratar estas enfermedades producidas por el *Staphylococcus aureus*, si tienen algún efecto sobre este agente y que tan efectivas son, de tal forma lograr disminuir el abuso de drogas para combatir a esta bacteria y apoyarnos de esta medicina alternativa como un coadyuvante al tratamiento de dichas enfermedades producto de esta bacteria resistente¹⁻³.

En el Perú, encontramos diversidad de plantas con efectos favorables en la salud dentro de las cuales resaltamos al *Myrciaria dubia* “Camu camu”, como un tratamiento alternativo de las enfermedades infecciosas producidas por agentes bacterianos como el *Staphylococcus aureus*, puesto que se reconoce que dicha planta contiene diversos componentes activos como flavonoides, quinonas, saponinas, lactonas sesquiterpénicas, compuestos grasos (aceites esenciales), proantocianidina, taninos y ácido ascórbico que ejercen un gran efecto antimicrobiano, es por ello que despierta el interés de estudio para reconocer en cuál de las concentraciones se observara un buen efecto inhibidor sobre el crecimiento bacteriano y comprobar la efectividad antimicrobiana sobre las cepas del *Staphylococcus aureus*. De esta forma reducir la gran demanda de antibióticos utilizados para contrarrestar patologías producidas por este agente, reducir el uso innecesario de antibiótico y así mismo disminuir la resistencia a estos, también nos permite evitar padecer de las reacciones adversas del tratamiento aplicado, por ello el “Camu camu” es una gran alternativa de tratamiento para enfermedades infecciosas por su gran efecto antimicrobiano²⁻⁴.

1.2 Trabajos previos

Ramos R, et al. ⁵ en Perú 2010, en su tesis “Efecto Inhibitorio in vitro del extracto natural de Zingiber Officinale “Kion” frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* resistente y sensible a *Oxacilina*, Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo Lambayeque”, concluyeron que los diámetros de halos de inhibición del SARO fueron de 67.3 y 33.3 mm en las 2 cepas resistentes a *oxacilina* y con respecto al SASO fueron de 100 y 67.6 mm en las 2 cepas sensibles a *oxacilina*, a volúmenes de 1, 5, 10 y 15 ml, al volumen de 20 ml obteniendo una inhibición completa de ambas cepas tanto sensibles como resistentes;

concluyendo que el efecto del extracto natural del “Kion” tiene gran efecto antibacteriano directamente condicional al volumen del extracto..

Mori T, et al. ⁶ en Perú 2013, en su tesis “Actividad antibacteriana del *Myrciaria dubia* “Camu camu” y *Cyperus luzulae* “Piri piri” sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*, *E.coli* y *Pseudomonas aeruginosa*”, realizado en la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Iquitos; obtuvieron como resultados que el extracto de hojas y corteza del “Camu camu” en unas concentraciones de 500 mg/ml, 600 mg/ml, 700 mg/ml y 800 mg/ml tuvieron actividad antimicrobiana frente a dichos agentes bacterianos y el extracto hidroalcohólicos de la flor, tallo y raíz del piri piri no mostro actividad antimicrobiana; la concentración mínima inhibitoria del extracto de hoja del “Camu camu” sobre una suspensión de 10^6 UFC/ml de *Staphylococcus aureus* fue igual a 6.38 mg/ml.

Castillo C. ⁷ en Perú 2013, en su tesis “Efecto inhibitorio in vitro de *Myrciaria dubia* “Camu camu” sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*”, realizado en la Universidad Nacional de Trujillo, concluyó que: *S. aureus* es sensible a *M. dubia* debido a que los diámetros de los halos de inhibición son mayores a 8 mm, según la escala de Duraffourd; encontrando diferencia estadística significativa entre los diámetros de los halos de inhibición hallados de acuerdo a la concentración del extracto etanólico de *M. dubia* utilizada ($P < 0,05$), es decir el efecto depende de la dosis; concluyéndose que conforme aumenta la concentración del extracto etanólico de *Myrciaria dubia* aumenta el diámetro de halo de inhibición, aumentando el efecto inhibitorio sobre *S.aureus*.

Moromi NH, Ramos PD, Martínez CE, Chávez AE, Espinoza F. ⁸ en Perú 2014, en su tesis “Efectividad in vitro de un colutorio a base de *Myrciaria dubia* “Camu camu” sobre bacterias de importancia oral, Universidad Mayor de San Marcos, Lima”; concluyeron que el colutorio a base del extracto de *Myrciaria dubia* mostró efectividad in vitro frente al *S. mutans* no evidenciando el mismo efecto frente a *P.gingivalis*. Los resultados in vitro mostraron la formación de halo de inhibición frente a las cepas mencionadas, con diámetros entre 13-17 mm para *S.mutans* y 7-8 mm de diámetro para *P.gingivalis*, en concentraciones de 10 %, 20 %, 50 % y 100

%, donde la efectividad aumentó en relación directa con la concentración, donde la mayor efectividad del extracto y del colutorio de *Myrciaria dubia* fue en la concentración del 100 %, observándose su efectividad a partir de la concentración del 20 %; concluyendo que hubo evidencia del efecto antimicrobiano del *Myrciaria dubia* in vitro ya que redujo en un 55 % el recuento total de bacterias y en 85 % en el recuento de *S. mutans* de la saliva después de 10 minutos de su aplicación in vivo.

Camere R, Ulloa G, Medina D, Caballero S, Mayta F, Del Valle J.⁹ en Perú 2016, en su investigación titulada “Evaluación in vitro del efecto antibacteriano y citotóxico del extracto metanólico de semilla y pulpa de la *Myrciaria dubia* “Camu camu” sobre cepas de *Streptococcus mutans* (atcc 25175) y *Streptococcus sanguinis* (atcc 10556)” en la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas de Lima, concluyeron que el grupo de la semilla presentó mayor efecto antibacteriano que el grupo de la pulpa; por otro lado, en el caso de *Streptococcus sanguinis*, se observó que el tamaño de los halos de inhibición es de $19.21 \pm 5.18\text{mm}$ y $19.34 \pm 2.90\text{mm}$, para los extractos de semilla y de la pulpa, respectivamente; concluyéndose que la prueba de Shapiro Wilk no evidenció una distribución normal en el grupo del extracto de la semilla en ambas cepas.

López A.¹⁰ en Perú 2017, en su tesis “Efecto antibacteriano del zumo de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticula* sobre *Escherichia coli* y *Salmonella tify*”, de la Universidad Cesar Vallejo de Trujillo, demostró en las 21 muestras tomadas, donde aplicó el zumo del *Myrciaria dubia*, que el promedio del halo de inhibición fue $16.90 \pm 3.45\text{mm}$ y *Citrus grandis* de $14.92 \pm 1.81\text{mm}$; concluyendo que el zumo de *Myrciaria dubia* tiene un mayor efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* en comparación con el zumo de *Citrus grandis*

Saldarriaga E.¹¹ en Perú 2017, en su tesis “Efecto Antimicrobiano del extracto etanólico de *Myrciaria dubia* “Camu camu” sobre *Streptococcus mutans* (ATTC 25175)”, realizado en la Universidad Nacional de Trujillo, identificó que todas las concentraciones presentaron halos de inhibición mayores a 8 mm, las cuales aumentaron de manera directamente proporcional a la concentración utilizada y que existía una diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones

($p < 0,01$); así mismo evidenció que la concentración mínima inhibitoria fue de 25%; por lo que concluyó que el extracto etanólico de *Myrciaria dubia*, sí presenta efecto antibacteriano in vitro sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATC 25175).

1.3 Teorías relacionadas al tema

La Myrciaria dubia “Camu camu” planta medicinal que crece en las regiones amazónicas del Perú (Pucallpa y Loreto), Ecuador y Brasil, frecuentemente en los suelos aluviales que son inundados en épocas de cambios climáticos (Épocas de lluvia), en los bordes de los ríos y aguas negras del Amazonas y en pocas áreas de aguas blancas, usualmente en las llanuras inundables, meandros abandonados (Cochas), lagos y causes menores. Se reconoce otros nombres vulgares, Camo Camo, limoncillo, Cacari, guapuro blanco, algracia, guayabillo, guayabito y miraubá¹².

El Árbol del “Camu camu” mide en un promedio 8 metros de altura, la fruta varía del color verde al rojo, tiene una forma ovalada de un aproximado de 3 cm de diámetro y un peso de 20 gr, tiene mucho parecido a la cereza. La raíz se presenta en una forma cónica, que pueden llegar hasta 50 cm de profundidad de la superficie, su tallo tiene un diámetro de 15 cm de color marrón y corteza liza, sus hojas son simples elípticas de 5.6 a 11 cm de longitud y 1.8 – 5 cm de ancho, su fruto maduro es alimenticio con sabor ácido similar al limón. Es reconocida por su alto contenido de vitamina C (ácido ascórbico), comparada con otras frutas conocidas, compuestas a la vez por activos como flavonoides (flavonoles, quercetina, morina, kaempferol), quinonas, saponinas, lactonas sesquiterpénicas, compuestos grasos (aceites esenciales), proantocianidinas (cianidina, malvidina, petudina y pelargonidina), taninos y compuestos volátiles los cuales le proporcionan su gran actividad antioxidante y antiinflamatoria^{12,13}.

Las condiciones húmedas tropicales facilitan el desarrollo de dicha planta, crecen frecuentemente a una altitud alrededor de 100 o 300 msnm, donde los promedios de lluvias llegan a un alrededor de 2500 mm al año y con una temperatura promedio alrededor de 26 grados centígrados. El “Camu camu” en comparación con la naranja tiene como contenido más de 2 a 3 veces de niacin y riboflavin, 30 - 50 % más de

vitamina C y fosforo, más de un 10 % de hierro. También se encuentra en pequeñas cantidades la Tiamina, calcio y otros elementos fitoquímicos, los cuales proporcionan propiedades antidepresivas, antimicrobianas, antioxidantes, antigripales y poderoso aliviador del stress ^{13,14}.

El “Camu camu” en 100 gr de su pulpa nos da una composición con valor nutricional de agua, 94 % de valor energético, carbohidratos 4.7 gr, proteína 0,5 gr, calcio 27.0 mg, fibra 0,6 gr, ceniza 0,2 gr, fierro 0,5 mg, fosfato 17 mg. Tiamina 0,01 mg, ácido ascórbico 2,780 mg – 2,994 mg, riboflavina 0.04 mg y niacina 0,62 mg ^{14, 15}.

La *Myrciaria dubia* “Camu camu” su consumo en la industria farmacéutica se toma dicha planta como un elemento muy útil para la producción de pastillas y capsulas como fuente natural de vitamina C. La pulpa es útil primordialmente para la producción de mermeladas, yogures, néctares, jugos y bebidas alcohólicas (por su alto contenido de ácido cítrico), es por ello que es muy útil en la preparación de productos multivitamínicos y puede ser mezclado su contenido con otras frutas tropicales ^{15,16}. El extracto etanólico se obtiene macerando la planta aromática en etanol (alcohol etílico), por lo que permite extraer los compuestos solubles en este alcohol, el extracto puede ser preparado a base de agua, etanol, éter o metanol, teniendo como característica principal brindarnos la ayuda a extraer y conservar la sustancias, propiedades esenciales y compuestos activos de las plantas, esto es obtenido de la materia prima desecada por ello presenta un olor característico, por la maceración que entra en contacto con estos compuestos ^{17,18}.

El “Camu camu” ha demostrado un gran efecto antimicrobiano en los distintos agentes infecciosos que existen a nivel mundial, sus efectos se deben a la gran importancia de su contenido, como los compuestos polifenólicos los cuales presentan el efecto antioxidante y otros componentes como los flavonoides, antocianinas, así como también taninos, saponinas que han demostrado tener un gran efecto antimicrobiano ^{17,18}.

La actividad antimicrobiana se puede explicar por el gran contenido de compuesto fenólicos, sobre todo los flavonoides y dentro de estos tenemos a las antocianinas y

antocianidinas que posee la cáscara y hoja del “Camu camu”, la actividad antibacteriana de los flavonoides está determinada gracias a la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos, para lo cual los autores sugieren que el anillo B de los flavonoides pueden jugar un papel en la intercalación o enlace de hidrogeno con el apilamiento de las bases de los ácidos nucleicos, lo cual inhibiría la síntesis de ADN y ARN. Las catequinas, un tipo de flavonoides, actúan dañando la membrana celular bacteriana, esto se explica mediante dos teorías: perturbando la bicapa lipídica mediante la penetración directa de estas y mediante la disrupción de la función de barrera; con lo que ocasiona la salida de los componentes celulares, lo cual se produce sobre todo en organismos Gram positivos como el *S.aureus*. El licocalcón otro tipo de flavonoides inhiben el metabolismo energético, mediante la fuerte inhibición de la NADH-citocromo reductasa ¹⁹.

El *Staphylococcus aureus*, bacteria anaerobia facultativa gram +, agente frecuente y distribuido a nivel mundial productor de coagulasa y catalasa, su principal reservorio es el ser humano se ubica con frecuencia en la piel y fosas nasales de los usuarios sanos. Es productor de múltiples enfermedades infecciosas, en la piel como forúnculos y abscesos cutáneos, también dentro de los más complicados encontramos la neumonía, shock toxico, sepsis, meningitis, endocarditis, hasta shock séptico¹⁹. Dentro de sus aspectos epidemiológicos encontramos que es un agente común en enfermedades infecciosas severas, tanto de origen hospitalario como comunitario, conocida como bacteria oportunista, puesto que forma parte de la flora del ser humano, desde que nacemos somos colonizados por dicha bacteria muy frecuente en las áreas de la piel, área perineal y fosas nasales, en esta zona es muy común el reservorio pues es el principal en el hombre, enfermo o portador. Las colonizaciones son muy comunes en los nosocomios en principal a pacientes que se les realizan hemodiálisis, pacientes con infecciones crónicas como la diabetes, en lesiones cutáneas, adictos a drogas e infectadas con VIH ^{20, 21}.

Dentro de su frecuencia, se sabe que es un miembro constante de la flora microbiana en el 10 al 20 % de la población. Estas bacterias se acumulan de preferencia en las cavidades nasales (35%), perineo e ingle (20%), axila (5 al 10 %), ombligo y manos (13%). La población de riesgo es generalmente en edades menores,

inmunodeprimidos y extremos de la vida, en niños menores de 5 años, lactantes, gestantes y adultos mayores, dentro de otro reservorio aparte del ser humano se encuentra los mamíferos, aves, alimentos contaminados y agua. Son muy frecuentes las enfermedades infecciosas que ya se han mencionado que van desde infecciones cutáneas, celulitis, abscesos, infecciones a nivel óseo como la osteomielitis y otras más graves como la meningitis, sepsis y neumonía. Ha este agente bacteriano se le toma una gran importancia por la severidad de los casos tanto nivel comunitario y más severos a nivel hospitalario, puesto que ha demostrado una adquisición de resistencia a diversas familias de fármacos antibióticos utilizados para contrarrestar las infecciones producidas por este agente mencionado anteriormente ^{20,21}.

Dentro de su morfología es caracterizado por presentarse en colonias brillantes, con una forma convexa y lisas, teniendo un color amarillo naranja (color dorado), su crecimiento se da en un rango de T°6.5 a 50 grados y teniendo como una temperatura optima entre 30 y 40 grados. Existen múltiples infecciones que son provocadas por dicho agente que dependen mucho de la alteración del mecanismo inmunitario o de defensa que presenta el huésped, por lo tanto depende también de factores de agresión que presenta este. Tenemos muchos factores predisponentes a que este agente produzca su infección dentro de los cuales tenemos defectos de quimiotaxis tanto congénitos como adquiridos dentro de ellos están, diabetes mellitus, artritis reumatoide, también defectos en la fagocitosis como enfermedad granulomatosa crónica, en piel quemaduras, lesiones y diversas enfermedades crónicas ²⁰⁻²².

Este agente bacteriano con mucha frecuencia produce su infección de dos maneras por medio de una invasión y destrucción que es la forma directa o por medio de su continuidad o diseminación por vía sanguínea por la cual realizan sus efectos las toxinas. Su patogenia esta mediada por sus componentes de su pared bacteriana, tanto enzima catalasa las cuales realizan una función de inactivación, coagulasa que ayuda a cubrir la célula fibrina, logrando así una resistencia de su pared ante los ataques del sistema inmunitario, otros componentes que encontramos son hialuronidasa y lipasas estos se encargan en colaborar la diseminación de estos agentes a los diferentes tejidos. También se encuentran toxinas que producen diferentes efectos de acción

como la hemolíticas dentro de la cual esta alfa, beta, gama y también se encuentran las exfoliatinas, enterotoxinas, leucocidina y hemolisinas ²⁰⁻²².

La coagulasa se presenta en dos formas: Como factor de agregación o coagulasa ligada y la coagulasa libre. La coagulasa ligada es capaz de convertir directamente sin intervención de factores plasmáticos el fibrinógeno en fibrina, produciendo la coagulación del plasma, facilitando el desarrollo de sepsis y abscesos. Existe una fuerte correlación entre la producción de coagulasa y la virulencia de la cepa. Es usada como marcador de virulencia, ya que permite diferenciar *S. aureus* coagulasa positivo. Su importancia en la patogenia radica en la formación de una capa de fibrina alrededor del absceso estafilocócico localizando la infección y con ello se evita la fagocitosis de la bacteria. La catalasa es otra enzima que degrada el peróxido de hidrógeno dándole protección al microorganismo contra la fagocitosis, mientras que la hialuronidasa degrada el ácido hialurónico de la matriz del tejido conjuntivo facilitando la diseminación de la infección ^{20,21}.

El *Staphylococcus aureus* presenta un diámetro de 0,5 a 1.5 micras caracterizado por su división en grupos que dan un parecido a un racimo de uvas a la fecha actual han reportado que existen 35 especies de este agente bacteriano y 17 subespecies los cuales tienen una gran capacidad de adaptación. Los datos obtenidos a través de la clínica y epidemiología son importantes, nos brindan una gran sospecha de agentes etiológicos causantes de las infecciones, usualmente los profesionales recomiendan en uso de métodos de laboratorio para la identificación de dichos agentes, las muestras o cultivos son frecuentemente obtenidas de líquidos tejidos y sangre, como aspiración de absceso, a la cual se le aplican la tinción de Gran, esta es usada para su identificación ²⁰⁻²².

La prevención para dichas enfermedades producidas por este agente son muy útiles los desinfectantes como el uso clorohexidina, hipoclorito sódico 1 % y etanol 70%, también es utilizado el calor seco para producir una inactivación física en la cual se usa 160 a 170 grados durante 1 hora, para ello se tiene en cuenta que dicha bacteria presenta resistencia al calor por medio de su enterotoxinas. Es por ello que en los

centros de trabajo, hogares, hospitales o centros sanitarios se recomienda la desinfección de sus herramientas o instrumentos de uso ^{22, 23}.

Se aplica como tratamiento contra este agente bacteriano la *Oxacilina*; Antibiótico betalactámico, penicilina semisintética de acción bactericida, resistente a la degradación de la penicilinasa estafilocócica y ácido resistente, que es útil para tratar infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* productores de penicilinasa. Es uno de los principales agentes antibióticos de elección en casi todas las enfermedades producidas por *S. aureus* a pesar del aumento en la frecuencia de aislamiento de los microorganismos meticilina resistentes. Presentación Perú: Polvo para Solución Inyectable de 500mg y 1gr ²⁴. Como mecanismo de acción presenta que es bactericida, su acción depende de la capacidad para alcanzar y unirse a proteínas que ligan a penicilinas localizadas en las membranas citoplasmáticas de las bacterias; mientras otras penicilinas inhiben la síntesis del septo y la pared celular de dicha bacteria, por acetilación de las enzimas transpectidasas, las cuales están unidas a la membrana, esto inhibe el entrecruzamiento de las cadenas de peptidoglicanos, lo que es importante para la fuerza y rigidez de la pared celular bacteriana; otro mecanismo es por medio de la inhibición de la división celular, el crecimiento y posterior a ello produce con frecuencia lisis y elongación de las bacterias sensibles; las bacterias que presentan división rápidamente son más sensibles a la acción de las penicilinas ^{24, 25}.

La *oxacilina* inhibe la tercera y última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana, ya que se une preferencialmente a proteínas específicas para las penicilinas (PBPs) que se encuentran en la pared celular bacteriana. Las proteínas de unión a penicilinas son las responsables de distintas etapas en la síntesis de la pared celular, las proteínas de unión a las penicilinas varían entre diferentes especies bacterianas, por lo que la actividad intrínseca depende de la capacidad que tengan para acceder y unirse a las PBPs adecuadamente. La capacidad para interferir con la síntesis de la pared celular esta mediada por los PBPs lo que nos conduce como última etapa del mecanismo la lisis bacteriana ^{24, 25}.

Este antibiótico está indicado en infecciones causadas por *S. Aureus* resistentes a la penicilina, *S. Aureus* meticilina sensibles; Neumonía estafilocócica, septicemia

bacteriana, sinusitis, infecciones de la piel y tejidos blandos. También está indicada en infecciones de heridas por quemaduras; endocarditis bacteriana; meningitis estafilocócica e osteomielitis. Son sensibles a la *oxacilina*: Gram (+): Streptococcus del grupo A, B, C, G, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus milleri, *S. aureus* meticilin sensible. Anaerobios como Peptostreptococcus. Pueden ser sensibles: Streptococcus viridans, Staphylococcus epidermidis ²⁴.

El tiempo de duración del tratamiento es ajustado según el tipo y severidad de la patología que presente. En infecciones severas su terapia antibiótica es administrada por un tiempo mínimo de 1 a 2 semanas, en osteomielitis crónica, endocarditis o infecciones metastásicas de 4 - 8 semanas. En adultos con diagnóstico de meningitis y/o sepsis, la dosis es de 1,5 a 2g IV c/4 h, endocarditis dosis de 1,5 a 2g c/4 h IV por 4 a 6 semanas; en otras indicaciones, como en infecciones leves a moderadas, la dosis es de 250-500mg IV o IM c/4 a 6 h y severa: 500mg - 1g IV ó IM c/4 a 6h ^{24, 25}.

Una dosis intramuscular de 500mg alcanza concentración máxima de 5,3 a 10,9µg/ml después de 30 a 60 min. Un pico de aproximado 52 – 63µg/ml se alcanza posterior a una dosis endovenosa de 500mg. La unión a proteína plasmática es de 89 - 94%. La vida media promedio de la *oxacilina* es de 1 hora, prolongándose hasta 2 horas en pacientes con insuficiencia renal severa ^{24, 25}.

1.4 Formulación del problema

¿Cuál es el efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con el efecto de la *Oxacilina*?

1.5 Justificación

El *Staphylococcus aureus*, ha demostrado ser uno de los agentes más frecuentes causales de múltiples enfermedades de tipo infecciosas y a la vez ha mostrado

resistencia a diversas familias de antibióticos; Es por tal motivo que hoy en día se busca terapias alternativas y preventivas contra esta bacteria, con frecuencia son utilizadas como alternativa de tratamientos las plantas medicinales en este caso el uso del extracto etanólico de *Myrciaria dubia* “Camu camu”^{26,27}.

El estudio adquiere importancia teórica, por el gran aporte preventivo y curativo que nos brindaría para las distintas enfermedades infecciosas producto de dicha bacteria. Por medio del estudio in vitro podremos demostrar su alta efectividad bacteriana que presenta el “Camu camu” sobre el *S. aureus* y su posterior aplicación en los pacientes, de esta manera se podría reducir el abuso de antibióticos y sus altas dosis y otros tratamientos invasivos. Además de ello se encuentran pocos proyectos de investigación sobre el efecto antibacteriano que produce el “Camu camu” sobre el *Staphylococcus aureus*^{26,27}.

También es de gran importancia social ya que se ha demostrado que el “Camu camu” presenta efecto antibacteriano en otros estudios y de esta forma se le reconoce su importancia por ser una terapia alternativa sobre las enfermedades infecciosas, además dicha planta es de bajo costo, lo que mejora la economía de los pacientes y su accesibilidad a muchas de las poblaciones que se encuentran alejadas en las zonas rurales puesto que crece de forma silvestre en distintas zonas del Perú. El propósito de este trabajo de investigación in vitro es generar una alternativa de tratamiento natural efectivo sobre esta bacteria y también promover en los especialistas de la salud que se interesen en indagar en una nueva alternativa de tratamiento a través del “Camu camu” para las enfermedades infecciosas producidas por este agente bacteriano^{27,28}.

1.6 Hipótesis

H₁: El extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” tiene efecto antimicrobiano in vitro sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con *Oxacilina*, estudio in vitro.

H₀: El extracto de *Myrciaria dubia* “Camu camu” no tiene efecto antimicrobiano in vitro sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con *Oxalicina*, estudio in vitro.

1.7 Objetivos

General

Determinar el efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” que tiene sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con la *Oxalicina*.

Específicos

- Identificar el efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico de la cáscara y la hoja de *Myrciaria dubia* “Camu camu” sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.
- Comparar el efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” de la cáscara y hoja sobre cepas de *Staphylococcus aureus* (promedios).
- Identificar el efecto antimicrobiano in vitro de la *oxacilina* sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

II. MÉTODO

2.1 Diseño de investigación

La presente investigación trabajo con un diseño experimental, con repeticiones múltiples, análisis factorial estímulo creciente ^{29, 30}, representado de la siguiente manera:

Dónde:

- X1: Dilución de “Camu camu” al 25% de la cáscara y la hoja (250mg/ml)
- X2: Dilución de “Camu camu” al 50% de la cáscara y la hoja(500mg/ml)
- X3: Dilución de “Camu camu” al 75% de la cáscara y la hoja(750mg/ml)
- X4: Dilución de “Camu camu” al 100% de la cáscara y la hoja(1000mg/ml)
- X5: Control positivo: *Oxalicina*.
- - 6: Control Negativo: Agua destilada.
- RG1, RG2 y RG3: Cepas de *Staphylococcus Aureus*
- O1, O2 y O3: Efecto antimicrobiano (Diámetro de Halo de Inhibición)

Tipología:

- R: Asignación al Azar (Grupos de estudio)
- G_{1, 2, 3}: Grupos de sujetos: Cepas de *Staphylococcus Aureus*
- X_{1, 2, 3, 4}: Tratamiento o estímulo: Extracto etanólico del *Myrciaria dubia* (25%, 50%, 75% y 100%)
- X₅ Tratamiento o estímulo: Control positivo: *Oxalicina*.
- - 6: Ausencia de un estímulo, grupo control: Control Negativo: Agua destilada.
- O_{1, 2, 3}: Observación del crecimiento bacteriano (zona de inhibición).

PLANTA	PARTES	CONCENTRACION	<i>Staphylococcus aureus</i>		
			RG1	RG2	RG3
EXTRACTO ETANÓLICO DEL MYRCIARIA DUBIA “CAMU CAMU”	CÁSCARA	25% (X₁)	O ₁	O ₁	O ₁
			O ₂	O ₂	O ₂
			O ₃	O ₃	O ₃
		50% (X₂)	O ₁	O ₁	O ₁
			O ₂	O ₂	O ₂
			O ₃	O ₃	O ₃
		75% (X₃)	O ₁	O ₁	O ₁
			O ₂	O ₂	O ₂
			O ₃	O ₃	O ₃
		100% (X₄)	O ₁	O ₁	O ₁
			O ₂	O ₂	O ₂
			O ₃	O ₃	O ₃
		OXACILINA (control positivo) (X₅)	O ₁	O ₁	O ₁
			O ₂	O ₂	O ₂
			O ₃	O ₃	O ₃
		AGUA DESTILADA (control negativo) (- 6)	O ₁	O ₁	O ₁
			O ₂	O ₂	O ₂
			O ₃	O ₃	O ₃
	HOJAS	25% (X₁)	O ₁	O ₁	O ₁
			O ₂	O ₂	O ₂
			O ₃	O ₃	O ₃
		50% (X₂)	O ₁	O ₁	O ₁
			O ₂	O ₂	O ₂
			O ₃	O ₃	O ₃
		75% (X₃)	O ₁	O ₁	O ₁
			O ₂	O ₂	O ₂
			O ₃	O ₃	O ₃
		100% (X₄)	O ₁	O ₁	O ₁
			O ₂	O ₂	O ₂

			O ₃	O ₃	O ₃
		OXACILINA (control positivo) (X₅)	O ₁	O ₁	O ₁
			O ₂	O ₂	O ₂
			O ₃	O ₃	O ₃
		AGUA DESTILADA (control negativo) (- 6)	O ₁	O ₁	O ₁
			O ₂	O ₂	O ₂
			O ₃	O ₃	O ₃

2.2 Variables y Operacionalización de variables

Variables

- **Independiente:**
 - Extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu”
 - Oxacilina.
- **Dependiente:**
 - Efecto antimicrobiano in vitro sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
Extracto etanólico del <i>Myrciaria dubia</i> “Camu camu”	El extracto etanólico se obtuvo macerando la cáscara y las hojas en etanol (alcohol etílico), por lo que se obtuvo los compuestos solubles o principio activo. Es un fruto de color rojo y sabor ligeramente ácido, que posee gran cantidad de compuestos activos que dan su gran valor antioxidante y antimicrobiano ¹⁹ .	Las concentraciones del extracto etanólico de “Camu camu”, se obtuvieron al 25%, 50%, 75% y 100% obtenidos en laboratorios.	<ul style="list-style-type: none"> •X₁ 25% •X₂ 50% •X₃ 75% •X₄ 100% •(-) Control negativo •X₅ Control positivo. 	Cuantitativa de razón

<i>Oxacilina</i>	Antibiótico betalactámico, penicilina semisintética de acción bactericida, resistente a la degradación de la penicilinasa estafilocócica y ácido resistente, es útil para tratar infecciones producidas por <i>Staphylococcus aureus</i> productores de penicilinasa ^{24, 25} .	Se evaluó al aplicar los discos de <i>oxacilina</i> como control positivo sobre las placas que contenían el cultivo bacteriano y posterior se realizó la medición del diámetro de halos de inhibición.	•X ₅ : <i>Oxacilina</i> 1µg	Cuantitativa
Efecto antimicrobiano in vitro en cepas de <i>Staphylococcus Aureus</i>	Es aquel que va a reducir el crecimiento de microorganismos patógenos, produciendo la muerte de esta bacteria. Él cual se observó mediante la formación del halo de inhibición alrededor de la aplicación de los discos (Zona transparente alrededor del disco donde una sustancia antibacteriana es capaz de impedir el crecimiento de la bacteria). A mayor concentración del antimicrobiano mayor efecto. ^{9,30} .	Para lograr determinar el efecto antimicrobiano se observó mediante la inhibición del crecimiento bacteriano, el cual se considera los diámetros de los halos de inhibición del <i>Staphylococcus aureus</i> ¹⁰ .	CLSI – M100: Estándares de rendimiento para la susceptibilidad antimicrobiana •Resistente (≤10) •Intermedia (11-12) •Sensible (≥13) ³¹	Cualitativa Ordinal

2.3 Población y muestra

Población

Estuvo constituido por el grupo de placas petri con el cultivo de cepas de *Staphylococcus aureus*, en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Cesar Vallejo Chiclayo.

Criterios de inclusión:

- Placas petri con cepas de *Staphylococcus aureus* preservadas en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Cesar Vallejo Chiclayo.
- Placas petri con extracto etanólico de *Myrciaria dubia* “Camu camu”, que presenten efecto inhibitorio o no del crecimiento bacteriano (ausencia o no de diámetros de halos de inhibición).
- Placas petri con *Oxacilina*, que presenten efecto inhibitorio o no del crecimiento bacteriano (ausencia o no de diámetros de halos de inhibición).

Criterios de exclusión:

- Placas Petri de productos a investigar que luego del proceso de incubación, presenten contaminación con otros microorganismos (distintas bacterias a la utilizada u hongos).
- Placas Petri de cepas de *Staphylococcus aureus* atenuadas con escasa actividad para formar unidades formadoras de colonias.
- Placas Petri de cepas de *Staphylococcus aureus* que al ser reactivadas no crecieron en los medios de cultivos diferenciales y selectivos.

Muestra

La muestra estuvo conformada por 108 unidades muestréales que corresponde: 1 planta de *Myrciaria dubai* “Camu camu”; 2 extracto etanólico (cáscara y hojas); 4 concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%) + *Oxacilina* (control positivo) + agua destilada (control negativo); 3 cepas del *Staphylococcus aureus* y 3 repeticiones por cada cepa de *Staphylococcus aureus*³².

Unidad de análisis

La unidad de análisis la constituyó cada una de las cepas de *Staphylococcus aureus* con medios de cultivo agar Mueller Hinton - Sangre y el extracto etanólico de cáscara y hoja de *Myrciaria dubia* “Camu camu” en sus determinadas concentraciones, el control positivo y control negativo, en el laboratorio de Biotecnología y microbiología UCV-Filial Chiclayo.

Unidad de muestreo

La unidad de muestreo estuvo conformada por las placas Petri con medios de cultivo que contenían a las cepas de *Staphylococcus aureus*, las que cumplían con los criterios de selección.

Muestreo

El muestreo fue aleatorio simple conformado por las concentraciones (100%, 75%, 50%, 25%) del extracto etanólico de *Myrciaria dubia* “Camu camu” de sus hojas y cáscara del fruto con tres cepas de *Staphylococcus aureus*; también se utilizó *Oxacilina* como control positivo y agua destilada como control negativo que se enfrentó con tres cepas de *Staphylococcus aureus*; asimismo, en cada cepa bacteriana se realizó tres repeticiones frente a la acción del extracto; ya que las cepas aisladas de heridas (Infección de sitio operatorio) se realizaron al azar conforme fueron encontradas.

2.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

Técnica de recolección de datos

La técnica de recolección de datos fue la observación de campo.

Instrumento de recolección de datos

El instrumento que se utilizó para el registro de los datos fue una guía de observación (Anexo1); la misma que por sus características no requirió ser validada.

El instrumento para la recolección de datos de los halos de inhibición estuvo conformado por una regla milimetrada o calibrador vernier; obteniéndose unas medidas que se registraron en un cuadro de base de datos.

Los procedimientos para la recolección de datos fueron los siguientes:

- En primera instancia, se presentó la solicitud de aprobación del Laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Chiclayo, para ejecutar la presente investigación en sus instalaciones (Anexo2)
- Obtenida la solicitud de aprobación para ejecutar la investigación (Anexo3) se procedió a solicitar la coasesoría de un docente de microbiología de la Universidad César Vallejo de Chiclayo, para garantizar la validez y confiabilidad de los datos obtenidos.
- Luego se procedió a presentar el proyecto de investigación a la Dirección de Escuela de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo.
- Aprobado el presente proyecto se procederá a ejecutarlo, según cronograma en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Chiclayo con la supervisión y control del coasesor (Anexo4).

Fase I: Obtención del extracto etanólico

Los procedimientos a seguir en laboratorio de Biotecnología y microbiología UCV-Filial Chiclayo, comprendieron los siguientes pasos:

- Recolección del “Camu camu” en un promedio de 3kg de hojas y 5kg de fruto, en buenas condiciones, posterior se realizó el lavado del fruto y hojas por medio de agua destilada y para desinfectarlo de todo germen se utiliza el hipoclorito de sodio, luego se procedió al enjuague con agua destilada.

Procedimiento del efecto antimicrobiano del extracto etanólico de hojas y cáscara de *Myrciaria dubia* “Camu camu”



Figura 1: *Myrciaria dubia* “Camu camu”



Figura 2: Hojas de *Myrciaria dubia* “Camu camu”

El secado del producto se realizó primero a temperatura ambiental alrededor de 24h, posterior se ingresa a la estufa con una T° de 35 - 40°C por 3 días, luego se procedió a pesar el producto.



Figura 3: Peso de la cáscara de *Myrciaria dubia* “Camu camu”

- La tritución del producto se realizó al estrujarlo manualmente por medio de un mortero, luego de ello se procedió a pesar el material obtenido.
- La preparación del extracto etanólico se realizó por medio de la maceración en alcohol al 96° por 4 a 5 días, luego se procedió a colocarlo en la estufa a 40° por un promedio de 4 días con movimiento constante.
- Obtenido este producto se procedió a filtrar 3 veces, primero se filtra con gasa estéril, seguido de papel filtro Whatman N°41 y finalmente un filtrado con papel Whatman N°2, esto permitió la evaporación del alcohol hasta llegar a una concentración punto miel de abeja, la cual equivale al 100%. Esta concentración fue diluida con dimetilsulfóxido al 75%, 50%, 25% y los 100% ya obtenidos, posterior la concentración en porciento se obtuvo por medio del disco de papel filtro de 6mm ^{33, 34}.

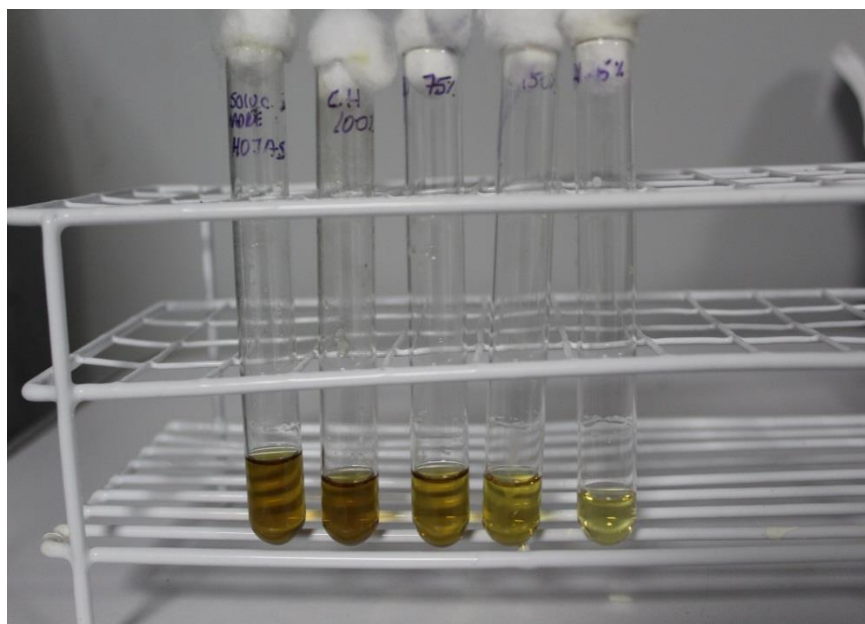


Figura 4: Extracto etanólico de hojas *Myrciaria dubia* “Camu camu” en sus diferentes concentraciones.

Fase II: Aislamiento de bacterias de heridas superficiales

Toma de muestras de ISO (Hospital Regional – Lambayeque)

- Se desliza el hisopo estéril humedecido sobre los bordes de la herida operatoria en forma de zig-zag y se finaliza en la zona central.
- En los pacientes con infección de herida operatoria profunda se realizó un lavado con solución salina y posterior se tomó la muestra de la parte más profunda de la herida.
- Arrastre mecánico previo a la toma de muestra; retiro de tejido esfacelado o necrótico. El hisopo debe estar húmedo y el medio de transporte Stuart en buen estado (cerrado, sellado y estéril) en los tubos de recolección según su identificación ^{33, 34}.

Procesamiento de las muestras

Aislamiento de *Staphylococcus aureus*

- Se siguieron las técnicas descritas en Koneman *et al.*, (1999) para lo cual las muestras se sembraron en Agar Sangre y en Agar Chapman Manitol y se incubaron a 37° C por 24 horas.



Figura 5: Sembrado de las cepas de *Staphylococcus aureus* en Agar Müller Hinton para la prueba de sensibilidad.

Criterio de selección:

- En Agar Sangre se consideraron las colonias de color crema, blanco cremoso o amarillentas; hemolíticas; en Agar Chapman Manitol se tuvieron en cuenta las colonias manitol positivo.

Identificación de *Staphylococcus aureus*.

Como se puede apreciar en la Figura 6, colonias típicas de *Staphylococcus aureus* aisladas de heridas de pacientes del hospital Regional de Lambayeque, sembradas en placas de agar manitol salado, siendo sus particulares la fermentación del manitol por esa razón las colonias se observan de un color amarillento, además sus aspectos culturales son: Colonias medianas, lisas, con bordes enteros y son incubadas en un ambiente anaeróbico en un tiempo de 24 horas con una temperatura de 37°C.



Figura 6: Cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de heridas de pacientes del Hospital Regional de Lambayeque

Identificación

- Se realizó la prueba de coagulasa. Para la identificación de *Staphylococcus aureus* aisladas de heridas de pacientes del Hospital Regional de Lambayeque se realizaron las pruebas de rutina como la prueba de la coagulasa en tubo, donde es una prueba sencilla y tiene una especificidad muy alta, que consiste en la búsqueda del factor de coagulación, asimismo se realizó la coloración de gram para la observación de la morfología bacteriana de *Staphylococcus aureus* donde su características principal en la disposición de cocos en racimos gram positivos (Figura 7 y 8).

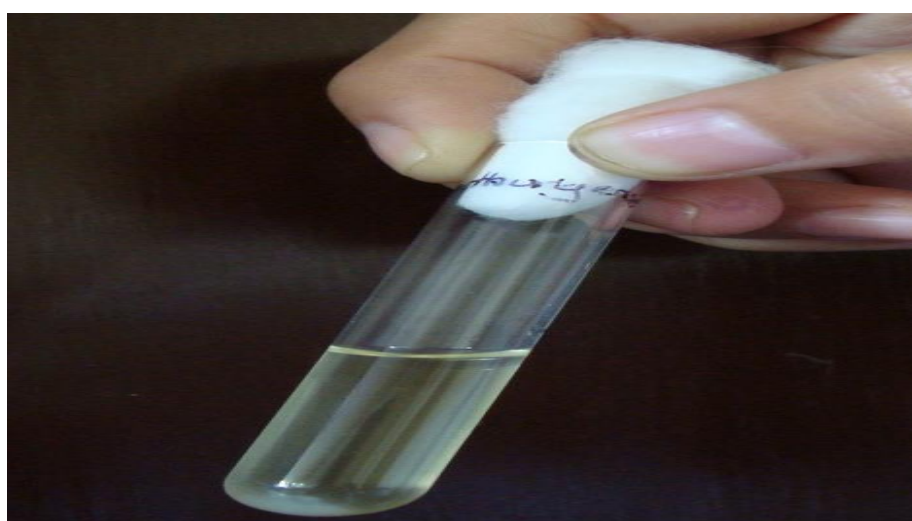


Figura 07: Prueba de coagulas para identificar *Staphylococcus aureus* aisladas de heridas de pacientes del Hospital Regional de Lambayeque.

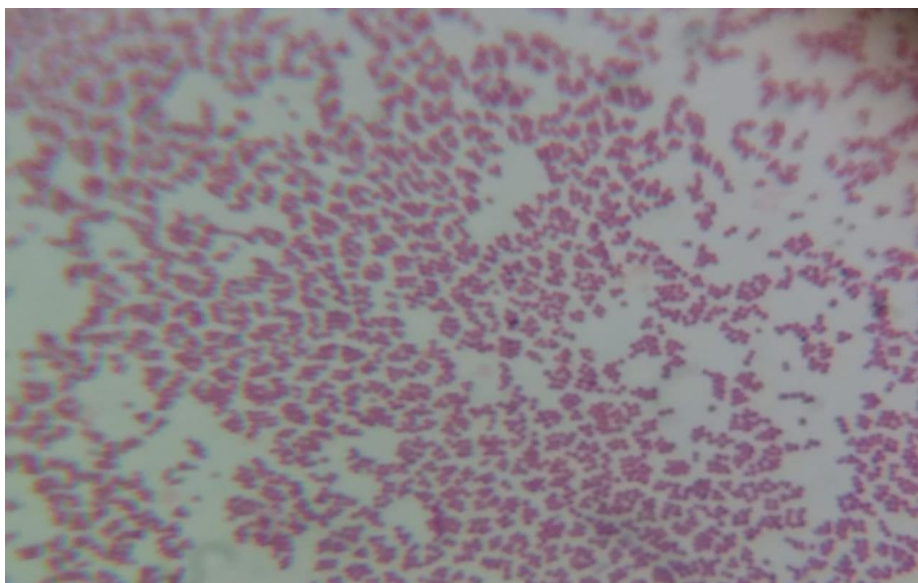


Figura 08: Morfología de *Staphylococcus aureus* (Cocos en racimos gram positivos) aisladas de heridas de pacientes del Hospital Regional de Lambayeque.

Obtención y Estandarización del Inóculo

- El inóculo se obtuvo por el método de Triantafilo, 2000 (citado en Chafloque y Rivas, 2002), el cual consistió en la reactivación de las cepas en estudio (*Staphylococcus aureus*) en 5ml de caldo nutritivo, incubación a 37°C de 4 - 6 horas, con la finalidad de alcanzar una turbidez igual al tubo N° 0,5 del Nefelómetro de Mc Farland, lo cual equivale a la concentración de $1,5 \times 10^8$ ufc/ml^{33, 34}.
- En el presente trabajo de investigación se aisló y trabajo con tres cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de heridas de pacientes del Hospital Regional de Lambayeque, identificadas con las pruebas antes mencionadas y fueron expuestas a las concentraciones del efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” de la cáscara y sus hojas (Figura 9).

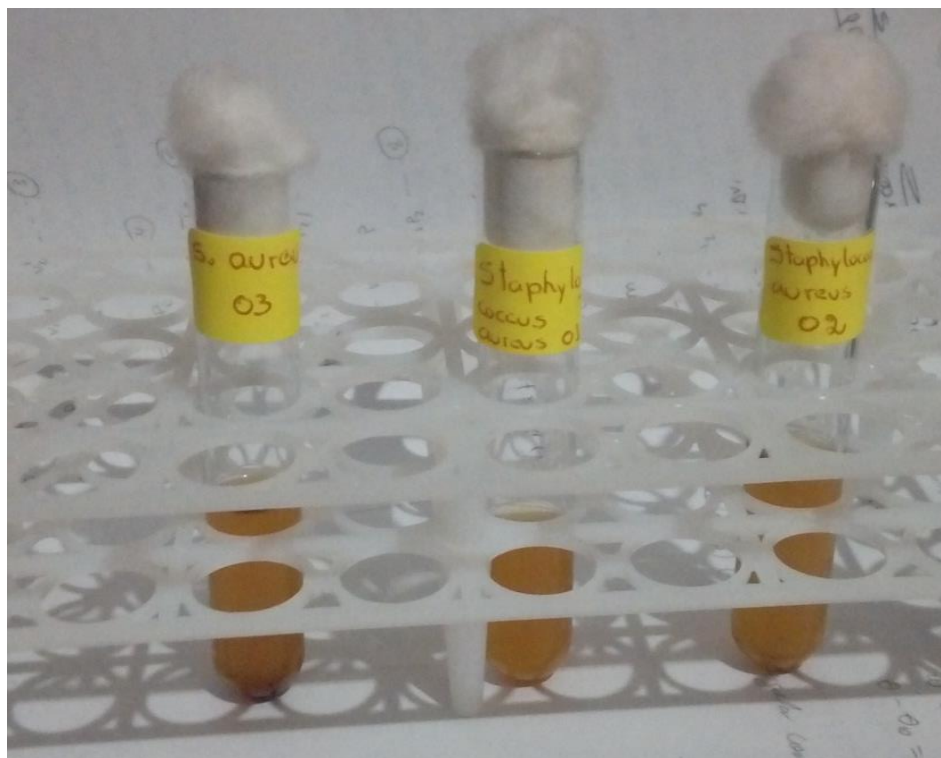


Figura 09: Cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de heridas de pacientes del Hospital Regional de Lambayeque.

Fase III. Efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico del *myrciaria dubia* “Camu camu” SOBRE LAS CEPAS DE *Staphylococcus aureus*

- El antibiótico se obtuvo por medio del disco de sensibilidad de *oxacilina*.
- Posteriormente obtenida las concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% que se realizó por medio de gasa, papel filtro Whatman N° 41, papel filtro Whatman N° 2, luego en discos de papel filtro de 6mm, posterior recolección con pipeta y micropipeta de los tubos de ensayo.
- Con respecto al control positivo que es la *oxacilina* se obtuvieron por medio del disco de sensibilidad de *Oxacilina 1µg* y como control negativo agua destilada los cuales se distribuyeron en dilución de 5 ul por cada concentración a las placas Petri con Agar Mueller Hinton con cepas de *S. Aureus*, luego de 24h se realizó la contabilidad de los halos de inhibición; se utilizó para la medición de halos de inhibición la regla milimetrada

(calibrador vernier) y posteriormente se llevó a cabo la recolección de datos 33, 34 .

- Obteniendo estos datos, se realizaron 9 observaciones para cada concentración de extracto etanólico de *Myrciaria Dubia* (cáscara y hoja) más el control positivo y control negativo para 3 cepas de *Staphylococcus aureus* y 3 repeticiones por cada cepa, según se graficó en diseño de investigación.

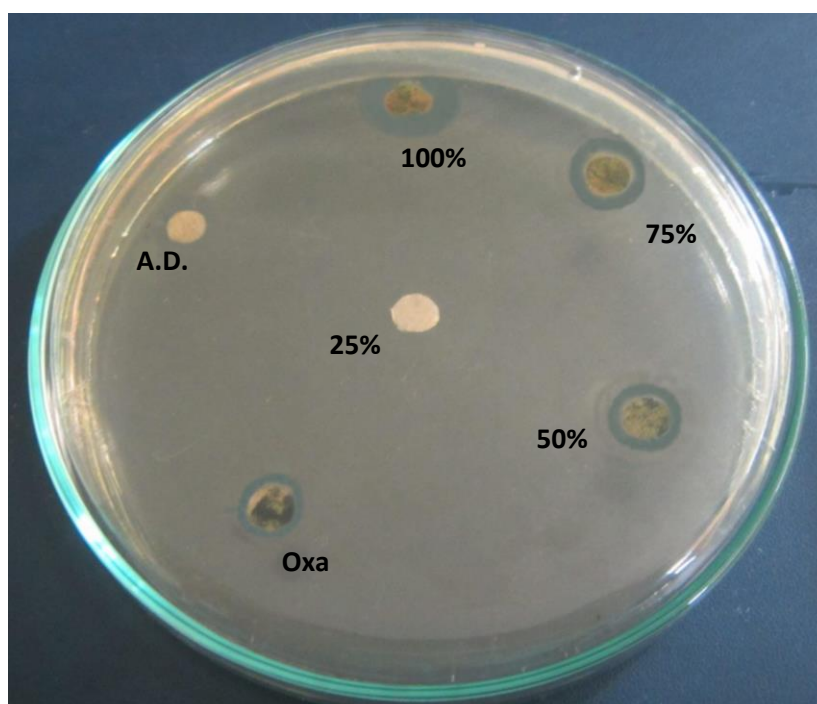


Figura 10: Halos de inhibición (mm) del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” de la cáscara sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* cepa 03.

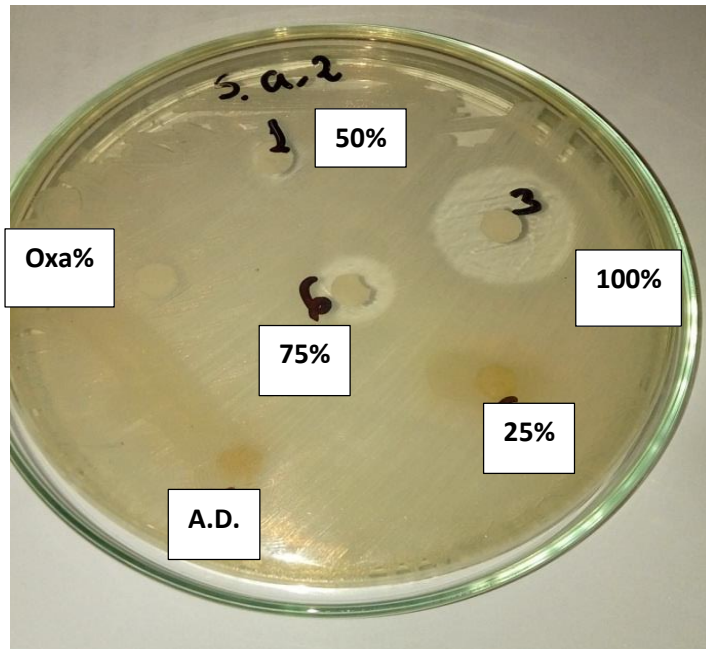


Figura 11: Halos de inhibición (mm) del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” de la cáscara sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* cepa 02.

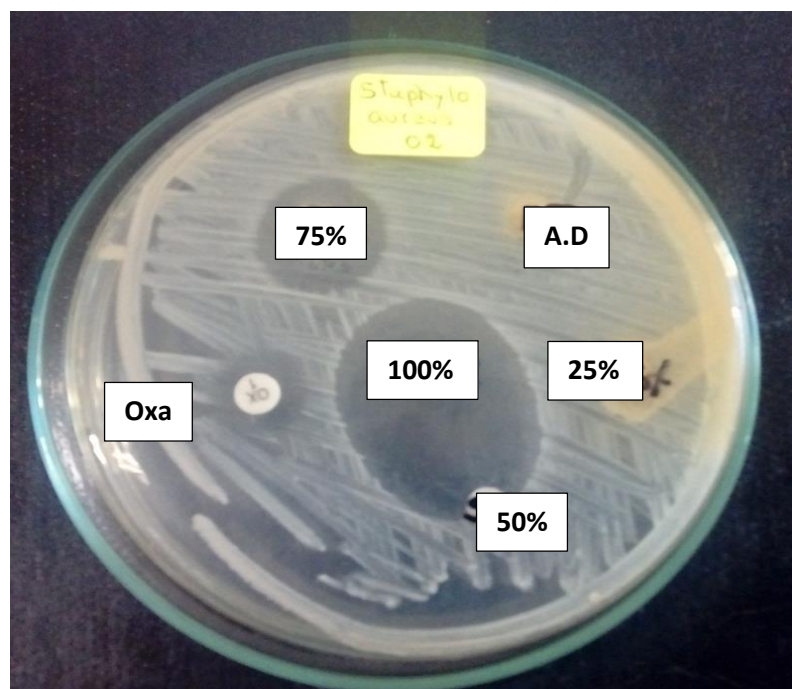


Figura 12: Halos de inhibición (mm) del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” de las hojas sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* cepa 02.

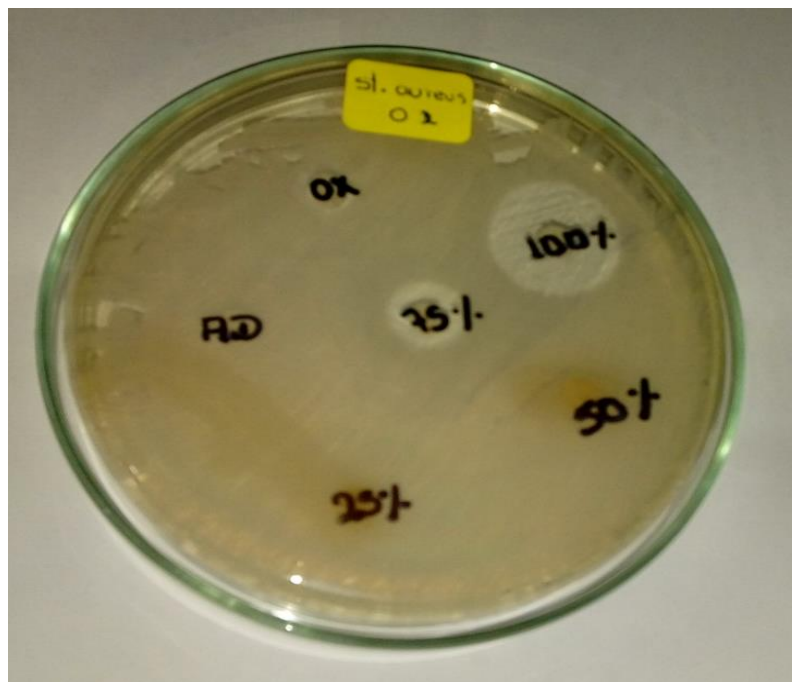


Figura 13: Halos de inhibición (mm) del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” de las hojas sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* cepa 01.

2.5 Método de análisis de datos

- La información de la recolección de datos, fue ingresada en la base de datos en el programa estadístico SPSS-22.0 con tabulación automatizada, los resultados fueron presentados en tablas estadísticas de frecuencias simples y porcentajes. Al final se realizó la prueba de varianza y la prueba de Tukey.
- Para el análisis de los promedios y desviaciones estándar de los halos de inhibición se aplicó las estadísticas descriptivas; así mismo, se trabajó con la estadística inferencia para comparar los halos de inhibición de las diferentes concentraciones del extracto a través de la prueba estadística Tstudent, siempre y cuando los datos siguieran distribución normal; caso contrario se utilizó Wilconxon.

2.6 Aspectos éticos

Para el desarrollo de un trabajo de investigación de carácter médico, se prestó atención a los factores que son potencial a causar daño en el medio ambiente y el personal, los cuales son los materiales inflamables y desechos orgánicos del producto, teniéndose en cuenta la manipulación y manejo de los desechos de las muestras con las cepas de *S. aureus*, de acuerdo al manual de seguridad en laboratorios de microbiología médica^{35, 36}.

Se realizó esta investigación respetando los criterios de las normas de ética en la investigación considerados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, adoptada por la 64° Asamblea general³⁷. También se obtuvo la aprobación del proyecto por parte de un jurado evaluador y posteriormente para su ejecución se contó con la aceptación de la Jefatura de los Laboratorio de Microbiología de la Universidad Cesar Vallejo de Chiclayo y de un co-asesor para la ejecución in situ (Anexo 2 y 3).

III. RESULTADOS

Tabla 1. Efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” de la cáscara y hoja sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

Extracto etanólico del		Halos de inhibición por especie (mm)		
<i>Myrciaria dubia</i> “Camu camu” (%)		<i>Staphylococcus aureus cepa 01</i>	<i>Staphylococcus aureus cepa 02</i>	<i>Staphylococcus aureus cepa 03</i>
Cáscara	25%	5.7	6	5.3
	50%	9	9.7	9
	75%	11	12	11.3
	100%	12.3	14.3	12.7
Hoja	25%	10.6	10.3	9.3
	50%	12	12.3	11
	75%	13	12.6	12.3
	100%	14.3	15	13

Fuente: Instrumento de recolección de datos

Interpretación:

La concentración al 100% del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” de la cáscara y hoja presentaron mayor halo de inhibición en las tres cepas de estudio, es decir presentaron mayor efecto antibacteriano (Sensibilidad), siendo la cepa 2 de *Staphylococcus aureus* la más sensible al efecto antimicrobiano tanto para cáscara como para hoja. Asimismo, las concentraciones de 25% y 50% presentaron resistencia a la acción del extracto etanólico de la cáscara y la concentración al 75% un efecto intermedio; mientras que para el caso de la hoja la cepa 02 y 03 presentó un efecto intermedio en la concentración al 75% y la cepa 01 presento sensibilidad en dicha concentración, la concentración al 50% presento un efecto intermedio en las 3 cepas de estudio y al 25% no se evidencio efecto antimicrobiano en las 3 cepas de *Staphylococcus aureus*.

Tabla 2. Comparación del efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” de la cáscara y hoja sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

Extracto etanólico del <i>Myrciaria dubia</i> “Camu camu” (%)	Promedio de Halos de inhibición por especie (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i> en cáscara	<i>Staphylococcus aureus</i> en hojas
25%	5.7	10.1
50%	9.2	11.8
75%	11.4	13
100%	13.1	14.1

Fuente: Instrumento de recolección de datos

Interpretación:

El extracto de hojas tiene mayor acción frente a las cepas bacterianas presentando efecto intermedio a partir de la concentración 50%, en las concentraciones de 75% y 100% presentaron un efecto sensible. En comparación al efecto antimicrobiano de la cáscara donde las concentraciones de 25% y 50% no presentaron efecto antimicrobiano, al 75% un efecto intermedio y demostrando sensibilidad al 100%.

Tabla 3. Efecto antimicrobiano in vitro de la Oxacilina sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*.

Antibiótico	Halos de inhibición por especie (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus cepa 01</i>	<i>Staphylococcus aureus cepa 02</i>	<i>Staphylococcus aureus cepa 03</i>
Oxacilina	13.2	9.45	13.8

Fuente: Instrumento de recolección de datos

Interpretación:

De las tres cepas aisladas de *Staphylococcus aureus* una presentó resistencia a la *Oxacilina* con un halo de inhibición de 9.45mm siendo la cepa 02, mientras que la cepa 01 y 03 presentaron efecto antimicrobiano siendo sensibles a este antibiótico.

Tabla 4. Efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” que tiene sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con la Oxalicina.

CEPAS	Antibiótico	Halos de inhibición por especie (mm)							
	Oxacilina	Extracto etanólico de cáscara				Extracto etanólico de Hojas			
		25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
<i>Staphylococcus aureus</i> 01	13.2	5.7	9	11	12.3	10.6	12	13	14.3
<i>Staphylococcus aureus</i> 02	9.45	6	9.7	12	14.3	10.3	12.3	12.6	15
<i>Staphylococcus aureus</i> 03	13.8	5.3	9	11.3	12.7	9.3	11	12.3	13
<i>Promedio</i>	12.15	5.7	9.2	11.4	13.1	10.1	11.8	13	14.1

Fuente: Instrumento de recolección de datos

Interpretación:

Al comparar el efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” de su cáscara y hojas con el antibiótico *Oxacilina* se aprecia que el extracto etanólico de las hojas en una concentración al 100% tiene mayor efecto antimicrobiano presentando halos de inhibición que supera los 13 mm en las tres cepas de *Staphylococcus aureus* demostrando así mayor sensibilidad en comparación con el efecto de la *Oxacilina* y cáscara de “Camu camu”. Asimismo, se observó que la cepa 02 presentó resistencia a la *Oxacilina*, mientras que la cepa 01 y 03 fueron sensibles a este antibiótico; igualmente el extracto etanólico de cáscara del “Camu camu” al 25% y 50% no presentaron efecto antimicrobiano, al igual que el extracto etanólico de hoja al 25%, mientras que las concentraciones de 50% y 75% presentaron un efecto intermedio.

Con respecto a la comparación de los promedios, observamos que la concentración al 25% y 50% del extracto etanólico de cáscara no presenta efecto alguno contra las cepas de *S. aureus* en estudios, mientras que su concentración al 75% presenta un efecto intermedio y al 100% un efecto sensible. Donde se evidencia que el promedio inhibitorio de la Oxacilina es de 12.15 el cual no supera los 13mm que son indicativos de un efecto sensible por que la Oxacilina demostraría un efecto intermedio. Al comparar con el extracto etanólico de hojas observamos que no demuestra efecto antibacteriano al 25%, mientras que al 50% presenta un efecto intermedio y a las concentraciones del 75% y 100% presentan el mayor efecto antibacteriano demostrando así mayor sensibilidad en comparación con los promedios de Oxacilina y cáscara de “Camu camu”.

IV. DISCUSIÓN

En la actualidad los profesionales de la salud han desarrollado y se encuentran realizando estudios sobre el uso de las plantas medicinales, con un fin terapéutico y que existan alternativas de tratamiento mediante el uso de estas plantas medicinales, muchas de las cuales demuestran propiedades con alta capacidad antiinflamatoria, antibacteriano e antioxidantes, etc.; las cuales anteriormente se usaban de manera empírica y que hoy en la actualidad ya presenta una base científica puesto que existe un aumento en la incidencia de enfermedades infecciosas, así como el desarrollo de resistencia a diversos antibióticos, es por ello, que la presente investigación cobra relevancia al determinar el efecto antimicrobiano que posee el *Myrciaria dubia* “Camu camu”, una especie vegetal poco estudiada en sus beneficios medicinales, a pesar de que se encuentra en las distintas regiones del Perú.

Así en la tabla 1, se identificó el efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” de la cáscara y hoja sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, verificándose que el extracto etanólico en estudio, tanto de la cáscara como de la hoja, presentaron efecto inhibitorio in vitro frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*, en un porcentaje igual y mayor a 75% para la cáscara y en un porcentaje igual o mayor a 50% en la hoja; verificándose además, que la hoja tiene mayor efecto antimicrobiano in vitro que la cáscara sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* y a la vez determinamos que en la concentración del 100% presentó mayor efecto inhibitorio para las tres cepas del estudio con el mayor halo de inhibición siendo de 15mm para hoja y de 14.3mm para cáscara.

Resultados que concuerdan con los de Mori T, et al. ², quienes hallaron la actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, en concentraciones de 600mg/ml, 700mg/ml y 800mg/ml del extracto de hoja y corteza, con una concentración mínima inhibitoria sobre una suspensión de 10^6 UFC/ml de *Staphylococcus aureus* la cual fue igual a 6.38mg/ml; sin embargo, no manifestaron los promedio de halos de inhibición que dieron como resultado en las cuatro concentraciones que aplicaron de 500mg/ml, 600mg/ml, 700mg/ml y 800mg/ml, solo relacionaron de forma general el efecto inhibitorio frente a *Staphylococcus aureus* refiriendo un diámetro de halos de inhibición

de 15mm en forma general para las tres concentraciones que presentaron efecto inhibitorio, comparándolo con el efecto producido frente *Escherichia Coli* y *Pseudomonas aeruginosa* donde mostraron resistencia frente a sus concentraciones, por medio de este estudio hemos demostramos los promedios de los halos de inhibición en cada concentración y los grupos de control con lo cual evidenciamos efecto a partir de la concentración del 50% en el extracto etanólico de hoja con un diámetro de halos de inhibición de 12 mm y con mayor efectividad al 100% con halos de inhibición de 15 mm del extracto de hoja y de cáscara 14.3mm.

Sin embargo, Mori T, et al.⁶ no refiere mediante su estudio los resultados de los diámetros de halos de inhibición de cada concentración que utilizo del extracto natural de *Myrciaria dubia* “Camu camu” frente a *Staphylococcus aureus* necesarios para determinar el efecto que presente las concentración de 500mg/ml, 600mg/ml, 700mg/ml y 800mg/ml que utilizo en su estudio, ya sea mediante la escala de duraffourd u otra escala cuantitativa ya establecida para determinar mediante la medición de los halos inhibitorios el efecto que presente frente al microorganismo antes mencionada.

Así mismo, en la tabla 2, se identificó los promedios de halos de inhibición de cada concentración las cuales son de 25%, 50% 75% y 100%, tanto de la cáscara como de la hoja del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* “Camu camu” sobre las tres cepas de *Staphylococcus aureus*, verificándose que se presentó un efecto intermedio a partir de la concentración del 50% del extracto de hoja con un diámetro promedio de halos de inhibición de 11.8 mm y al 75% de 11.4 mm, evidenciamos sensibilidad a partir de la concentración del 75% con un promedio de halos de inhibición de 13 mm y al 100% de 14.1 mm para extracto de hoja y para cáscara de 13.1mm.

Resultados que concuerdan con la investigación realizada por Castillo C.⁷, quien determinó el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia* “Camu camu” frente *Staphylococcus aureus*, el cual realizó su investigación utilizando las cuatro concentraciones semejante al presente trabajo de investigación, también concuerda con la bacteria de *Staphylococcus aureus* sobre la que realizó su investigación, con la diferencia que en la presente investigación, se utilizó 3 cepas de *Staphylococcus aureus* obtenidas de 3 pacientes con infección de sitio operatorio, lo cual

permitió determinar el efecto antimicrobiano positivo de la *Oxacilina*, convirtiéndose en un antibiótico muy eficaz frente a las infecciones producidas por el *Staphylococcus aureus*, obteniendo como resultados diámetros de halos de inhibición (Tabla 3) de 13.1 mm para cepa 01, 9.45 mm para cepa 02 y 13.8 mm para cepa 03, concluyendo que la cepa 02 presento resistencia a la *Oxacilina* y la cepa 01 y 03 presentaron sensibilidad bacteriana, por lo tanto la cepa 02 es resistente a la *Oxacilina* por lo que ninguna otra penicilina resistente a penicilinasas, cefalosporinas, β - lactámicos con inhibidores de β - lactamasa o incluso imipenem lograran ser efectivos para el tratamiento contra el *Staphylococcus aureus* resistentes a *Oxacilina*, con excepción de las distintas cepas que muestren sensibilidad in vitro o exclusión de las nuevas cefalosporinas con actividad anti MRSA, esta resistencia está determinada por la presencia del gen *mecA* quien codifica la PBP2a, la cual posee menos afinidad por la metilina y β - lactámicos.

Por otro lado Castillo C.⁷ utiliza como control positivo la Vancomicina teniendo como resultado de diámetro de halo de inhibición 14.77 mm donde este autor determina sensibilidad frente *Staphylococcus aureus*, sin embargo establece el efecto mediante la escala de duraffourd la cual determina cualitativamente el efecto inhibitorio in vitro donde un diámetro inferior a 8 mm es un efecto nulo, sensibilidad media a partir de un diámetro de 8 a 14 mm y sensibilidad de 14 a 20 mm a diferencia de este presente trabajo el cual se guía de acuerdo a los Manuales de procedimientos para la prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el método Kirby Bauer en el cual determina tres efectos ya establecidos a nivel mundial, resistencia a un diámetro de 10 mm, efecto intermedio de 11 a 12 mm y sensibilidad a un diámetro mayor a 13 mm, con respecto al control positivo *Oxacilina*, los diámetros mencionados anteriormente son los establecidos en las guías de susceptibilidad para este antibiótico, por lo tanto determina el efecto inhibitorio dependiendo del diámetro que se obtiene como resultado al realizar las medidas en las placas Petri de los halos de inhibición, estableciendo así la resistencia o sensibilidad de la bacteria frente al efecto del antibiótico como se menciona en este trabajo, donde la cepa 01 presento halos de inhibición de 13.1 mm concluyendo que presenta sensibilidad, para la cepa 02 fue de 9.45 mm presentando resistencia y 13.8 mm para la cepa 03 donde se evidencia sensibilidad frente al *Staphylococcus aureus*.

Castillo C.⁷ dentro de su investigación está utilizando como control positivo y comparativo a la *Vancomicina* es por ello que el autor debió utilizar la prueba de sensibilidad antimicrobiana frente a los antibióticos ya que son guías establecidas a nivel mundial para determinar el efecto que presente este antibiótico frente a *Staphylococcus aureus* mediante los diámetros de halos de inhibición, ya que están establecidos en las guías MINSA, por lo tanto su efecto de resistente, intermedio y sensible debe ser determinado por estas guías no por la escala que este autor utiliza ya que no sería la adecuada para determinar el efecto, sino por lo contrario se utiliza de forma general la cual nos permite establecer resistencia y sensibilidad de algún elemento natural que se aplique frente a un microorganismo mas no el efecto de un antibiótico frente a una bacteria.

Es por ello que se debió utilizar los valores estandarizados según guías donde los discos de vancomicina de 30 µg en el antibiograma se determina que menor a 15 mm de diámetros de halos de inhibición es resistente a este antibiótico y presenta sensibilidad mayor a 17mm, donde este autor obtiene como resultado con respecto a la vancomicina halos de inhibición de 14.77 mm, por lo que podemos determinar que el *Staphylococcus aureus* presenta resistencia frente a este antibiótico guiándonos de acuerdo a los valores establecidos ya antes mencionados.

Otro factor determinante para obtener adecuados resultados son los disolventes, donde en este presente trabajo realizo las diluciones con DMSO (dimetilsulfóxido) el cual es un líquido orgánico incoloro que contiene sulfoxido utilizado como disolvente orgánico ya que no altera la estructura y no presenta efecto antimicrobiano que altere el resultado, sin embargo Castillo C.⁷ en su investigación realizo las diluciones con etanol (alcohol etílico), liquido incoloro, inflamable, potente bactericida a una concentración del 70% produciendo una desnaturalización proteica de la bacteria por lo tanto es un potente bactericida para algunas cepas de *Staphylococcus aureus*, es por ello que los diámetros de halos de inhibición que obtiene este autor en su investigación de 15.07 mm a la concentración del 25%, 17.01 mm al 50%, 18.4 mm al 75% y 23.69 mm al 100%, valores mayores a los que se obtuvieron en este presente trabajo, los cuales podrían deberse a la acción tanto del *Myrciaria dubia* “Camu camu”, como de la acción bactericida del etanol, por es por ello que no sería la mejor dilución para emplear ya que no permite evidenciar

el verdadero efecto del extracto natural y por otro lado este autor refiere presentar sensibilidad en todas sus concentraciones sin embargo si evaluamos esos resultados de los halos de inhibición con respecto a los valores estandarizados en las guías podríamos determinar que existe efecto a partir de la concentración del 50% con un diámetro de 17.01 mm, similar a los resultados que se obtuvieron en este presente trabajo donde obtenemos efecto inhibitorio a partir de la concentración del 50% con un diámetro de halos de inhibición de 11.8 mm, menor al obtenido por este autor pero determinando el efecto según las guías establecidas.

Por otro lado la concentración mínima inhibitoria (CMI) demostrada por Castillo C.⁷ para las cepas de *Staphylococcus aureus* del extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia* “Camu camu” fue a una concentración del 75% con un promedio de UFC de 0.00 la cual coincide con este trabajo de investigación ya que tiene como resultado la CMI al 75% con respecto al extracto etanólico de cáscara, a diferencia del extracto etanólico de hoja de *Myrciaria dubia* “Camu camu”, el cual determina que la concentración mínima inhibitoria CMI fue del 50%, podríamos expresar que existe diferencia con respecto a la concentración mínima inhibitoria CMI del extracto etanólico de hoja debió a que dicha parte de la planta presenta mayor concentración de metabolito activo y/o compuestos fenólicos con mayor efecto antibacteriano de los cuales resalta los flavonoides y de esta forma su efecto es mayor a una menor concentración, su actividad antimicrobiana se explica por el gran contenido de compuesto fenólicos, sobre todo los flavonoides y dentro de estos tenemos a las antocianinas y antocianidinas que posee la cáscara y hoja del “Camu camu”, la actividad antibacteriana de los flavonoides está determinada gracias a la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos, para lo cual los autores sugieren que el anillo B de los flavonoides pueden jugar un papel en la intercalación o enlace de hidrogeno con el apilamiento de las bases de los ácidos nucleicos, lo cual inhibiría la síntesis de ADN y ARN del *Staphylococcus aureus*.

V. CONCLUSIONES

1. Los extractos etanólicos del *Myrciaria dubia* “Camu camu” de la cáscara (concentraciones 75 y 100%) y hoja (concentraciones 50, 75 y 100%) tienen efecto antimicrobiano in vitro sobre las tres cepas de *Staphylococcus aureus*, respectivamente; identificándose que a mayor concentración del extracto existe mayor efecto antimicrobiano.
2. El extracto etanólico de la hoja de *Myrciaria dubia* “Camu camu” presentó mayor efecto antimicrobiano sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* (promedio) comparado con el extracto etanólico de cáscara.
3. La *oxacilina* tiene efecto antimicrobiano in vitro sobre dos de las tres cepas de *Staphylococcus aureus*.
4. El extracto etanólicos de la hoja del *Myrciaria dubia* “Camu camu” en concentración al 100% tiene mayor efecto antimicrobiano in vitro sobre dos de las tres cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con la *Oxacilina*; mientras que la cáscara solo sobre una de las cepas; sin embargo, en promedio se puede identificar que tanto los extractos de hoja como de la cáscara al 100% tienen mayor efecto antimicrobiano in vitro sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con la *Oxacilina*.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar investigaciones para determinar los principios activos de *Myrciaria dubia* “Camu camu” con respecto a su actividad antibacteriana.
2. Promover el interés en los profesionales de salud para realizar investigaciones con respecto al *Myrciaria dubia* “Camu camu” y de otro tipo de extractos, con distintas plantas medicinales y tener mayor alternativa de tratamiento contra enfermedades, asimismo difundir el interés para realizar estudios in vitro con otros agentes etiológicos y ampliar el espectro antimicrobiano del *Myrciaria dubia* “Camu camu”.

REFERENCIAS

1. Camarena J, Sánchez R. Infección por *Staphylococcus Aureus* resistente a meticilina [Internet]. Seimc.org. 2018 [citado el 28 de mayo de 2018]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/sarm.pdf>
2. Morí T, et al. Efecto antimicrobiano del *Cyperus luzulae* “piri piri” y *Myrciaria dubia* ““Camu camu”” sobre microorganismos patógenos. Universidad nacional de Amazonas. Perú. Conoc. amaz. 2013; 4(1): 52-57.
3. Colarossi R, Ulloa G, Medina D, Caballero S, Tovalino F. Actividad antibacteriana de *Myrciaria dubia* (“Camu camu”) sobre las cepas de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. Perú. 2016; 6 (9): 740-744.
4. Pinedo M, Armas M. El “Camu camu” y sus usos populares como Planta medicinal, LEISA, 2009 Rev. Agroecol. 23(3). pag.22-24.
5. Ramos R, et al. “Efecto Inhibitorio in vitro del extracto natural de *Zingiber Officinale* “Kion” frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* resistente y sensible a Oxacilina, Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo Lambayeque. Perú. 2010. Pag. 45 – 55.
6. Morí T, et al. Efecto antimicrobiano del *Cyperus luzulae* “piri piri” y *Myrciaria dubia* ““Camu camu”” sobre microorganismos patógenos. Universidad nacional de Amazonas. Perú. 2013. Pag.49-57.
7. Castillo C. Efecto inhibitorio in vitro de *Myrciaria dubia* ““Camu camu”” sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. [Tesis para obtener el título de Médico Cirujano]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Medicina; 2013. Disponibles en Url: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/232>
8. Moromi NH, Ramos PD, Martínez CE, Chávez AE, Espinoza F. Efectividad in vitro e in vivo de un colutorio a base de *Myrciaria dubia* ““Camu camu”” sobre bacterias de importancia oral. Theorema – UNMSM 2014; 1(1):83-92.
9. Camere R, Ulloa G, Medina D, Caballero S, Mayta F, Del Valle J. Actividad antibacteriana de *Myrciaria dubia* (“Camu camu”) contra *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis*. [Tesis para obtener el Título de Cirujano Dentista] Lima: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2016; 6 (9): 740-744.

10. López A. Efecto antibacteriano del zumo de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticula* sobre *Escherichia coli* y *Salmonella typhi*. [Tesis para optar el título profesional de licenciado en Nutrición]. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Cesar Vallejo. Trujillo. 2016. revista científica-k. 5 (1). Pág. 41 – 53.
11. Saldarriaga E. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Myrciaria Dubia* (“Camu camu”) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). [Tesis para optar el grado de bachiller en Estomatología]. Facultad de Estomatología. Universidad Nacional de Trujillo, Perú. 2017: Pág. 47 – 59.
12. Peters C, Vásquez A. Estudios ecológicos de “Camu camu” (*Myrciaria dubia*) Producción de frutos en poblaciones naturales. *Folia amazónica*. 2009; 1(1-2):87.
13. Martin M, Peters C, Ashton M. Revista de Camu-camu (*Myrciaria dubia*): Veintisiete años de recolección de fruta e inundaciones en un lago de la Amazonía peruana. *Botánica económica* 2014; 68 (2): 169-176. Disponible en URL: <http://repositorioacademico.upc.edu.pe/upc/bitstream/10757/581744/1/CAMERE.pdf>
14. Arellano E, Rojas I, Paucar L. “Camu camu” (*Myrciaria dubia*): Fruta tropical con excelentes propiedades funcionales que ayudan a mejorar la calidad de vida. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Ancash. *Scientia Agropecuaria* 2016; 7: 433-443.
15. Hernández S, Barrera J. “Camu camu” (*Myrciaria dubia*): Uso y aprovechamiento del “Camu camu”. Instituto Amazónico de Investigación Científica Sinchi. Bogotá. 2010; 1: 93 – 98.
16. Chang A. El “Camu camu”, Aspectos químicos, farmacológicos y tecnológicos. (Internet). Ica. 2013 abril. (Fecha de último acceso 04 agosto del 2016). Disponible en: <http://bibliotecafarmaceutica.com/Libros/El%20CAMU%20CAMU.pdf>
17. Carrillo A, Rodríguez N, Rodríguez C. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. México. 2010. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 13 (2): 117-124. Disponible en URL: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v13n2/v13n2a14.pdf>
18. Vanina R. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano y citotóxico del extracto metanólico de semilla y pulpa de la *Myrciaria dubia* (“Camu camu”) sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556)

- [Internet]. Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas; 2015 [citado el 5 de mayo 2018]. Disponible en: <http://repositorioacademico.upc.edu.pe/upc/handle/10757/581744>
19. Castillo C. Efecto inhibitorio in vitro de *Myrciaria dubia* ““Camu camu”” sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. [Tesis para obtener el título de Médico Cirujano]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Medicina; 2013. Pág.: 39 - 44 Disponibles en Url: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/232>
 20. Cervantes E, García R, Salazar P. Patología Clínica: Características generales del *Staphylococcus Aureus*. Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina. UNAM. México. Rev Latinoam Patol Clim Med Lab 2014; 61(1):28-40.
 21. Zendejas M, Avalos F, Soto P. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*. Generalidades Patogenia y Métodos de Identificación. Universidad de la Ciénega del Estado de Ocampo. México. Rev Biomed 2014; 25:129-143.
 22. Cisterna C, Madariaga T. Patogenia de la infección por *Staphylococcus aureus*. Departamento de Microbiología e Inmunología. Facultad de Medicina de la Universidad del País Vasco. España. Rev Antares 2018; Pág.: 11 – 17. [Accedido el 21 de octubre de 2018] Disponibles en Url: <https://esteven.org/wp-content/uploads/2018/01/136593.pdf>
 23. Guía para el Tratamiento de Enfermedades Infecciosas [Internet]. Paho.org. 2013 [citado el 28 de mayo de 2018]. Disponible en: https://www.paho.org/blogs/paltex/wp-content/uploads/2013/06/gte06_preliminares.pdf
 24. Ministerio de Salud (MINSA). Centro de atención farmacéutica. [Internet] Digemid.minsa.gob.pe. Perú. 2018. [Consultado el 23 de agosto de 2018] Disponible en: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Oxacilina.pdf>.
 25. Mensa J. Guía de tratamiento antimicrobiano de la infección por *Staphylococcus aureus*. [Internet] Seq.es. Barcelona. 2013. Pág. 1 – 7. [Consultado el 23 de agosto de 2018]. Disponible en: <http://seq.es/seq/0214-3429/26/sup/guia.pdf>.
 26. Castillo C. Efecto inhibitorio in vitro de *Myrciaria dubia* ““Camu camu”” sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. [Tesis para obtener el título de Médico Cirujano]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Medicina; 2013. Pág.: 2-9 Disponibles en Url: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/232>

27. Sotero V. Evaluación de la actividad antioxidante de pulpa, cáscara y semilla del fruto de “Camu camu”., Revista de la Sociedad Química del Perú; Lima. 2009; 75(3): 293 – 299.
28. Muñoz A, Ramos F, Alvarado C, Castañeda B, Lizaraso C. Evaluación de compuestos con actividad biológica en cáscara de “Camu camu” (*Myrciaria dubia*) cultivada en Peru. Rev Soc Quim Peru 2009; 75(4): 431 – 8
29. Benítez C. Análisis de la variancia en experimentos factoriales [Internet]. Fcf.unse.edu.ar. 2010 [citado el 28 de mayo de 2018]. Disponible en: <http://fcf.unse.edu.ar/archivos/series-didacticas/sd-21-estadistica.pdf>
30. Ramón G. Diseños experimentales [Internet]. Viref.udea.edu.co. 2018 [citado el 28 de mayo de 2018]. Disponible en: http://viref.udea.edu.co/contenido/menu_alterno/apuntes/ac37-diseno_experiment.pdf
31. Ministerio de Salud (MINSA). Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión - pdf. [online] Docplayer.es. Perú. 2014. Pág. 10 – 21. Disponible en: <http://docplayer.es/13107056-Manual-de-procedimientos-para-la-prueba-de-sensibilidad-antimicrobiana-por-el-metodo-de-disco-difusion.html>.
32. Alvitres V. 2001. Método científico. Planificación de la investigación. 2da Edición. Editorial Ciencia. Chiclayo-Perú. 2001. Pag. 158 – 205.
33. Ramírez L, Marín D. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. Scientia et Technica 2009; 42: 263-67.
34. Montalvo R, Oliva K. Actividad antibacteriana In vitro del extracto etanólico y fracción acuosa de *Metricaria recutita* L. “Manzanilla”, secado al sol y bajo sombra sobre *Staphylococcus aureus*. [Tesis para optar el título de Licenciado en: Biología, Microbiología, Parasitología]. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque, Perú. 2010. Pág. 9 – 10.
35. Cerna S, Meléndez R. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de la flor de muerto (*Tagetes erectas*) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. [Tesis para optar el título en licenciado en: Biología, Microbiología, Parasitología. Facultad de Ciencias Biológicas]. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque – Perú. 2014. Pag. 14 – 15.

36. Organización Mundial de la Salud (OMS). Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. 3ªed. Ginebra, Suiza. Biblioteca OMS [Internet]. www1.paho.org. 2013 [citado el 28 de mayo de 2018]. Disponible en: http://www1.paho.org/spanish/ad/ths/ev/lab-biosafety_omsspa.pdf?ua=1
37. Asamblea General Fortaleza Brasil. Declaración de Helsinki de la AMM. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos [Internet]. Isciii.es. 2013 [citado el 28 de mayo de 2018]. Disponible en: <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-investigacion/fd-evaluacion/fd-evaluacion-etica-investigacion/Declaracion-Helsinki-2013-Esp.pdf>

ANEXOS

ANEXO 1

“EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL MYRCIARIA DUBIA “CAMU CAMU” SOBRE CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS COMPARADO CON OXACILINA”

Ficha de observación

PLANTA	PARTES	CONCENTRACION	<i>Staphylococcus aureus</i>		
			C1	C2	C3
EXTRACTO ETANÓLICO DEL MYRCIARIA DUBIA “CAMU CAMU”	CÁSCARA	25%			
		50%			
		75%			
		100%			
		OXACILINA (control positivo)			
		AGUA DESTILADA (control negativo)			
	HOJAS	25%			
		50%			
		75%			
		100%			
		OXACILINA (control positivo)			
		AGUA DESTILADA (control negativo)			

ANEXO 2



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

Trujillo, 21 de Marzo del 2018

OFICIO N° 119 - 2018/ UCV - EFCCMM - EAPM

SR.

DR. JOSE MODESTO VASQUEZ VASQUEZ

Director de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental – UCV Chiclayo

Presente:

ASUNTO: SOLICITO PERMISO PARA EJECUCIÓN DE PROYECTO DE TESIS

C. atención: **DR. HENRY LLOCLLA GONZALES** – Director de Investigación

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a Ud. a través del presente, para expresarle nuestro cordial saludo a nombre de la Escuela de Medicina y el mío propio. El motivo del documento es para solicitarle permita la ejecución del Proyecto de Tesis titulado "EFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL MYRCIARIA DUBIA "CAMU CAMU" SOBRE LAS CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS COMPARADO CON ERITROMICINA, ESTUDIO IN VITRO", en el laboratorio de "Biotecnología y Microbiología" de la Universidad Cesar Vallejo – Sede Chiclayo, a cargo del estudiante Joseph Axel Florián Gómez, quien se encuentra realizando su Internado de Medicina en el Hospital Belén de Lambayeque.

El mencionado estudiante es quien realizará las respectivas coordinaciones ante su despacho y con el Director de Investigación para el uso del laboratorio solicitado (materiales y equipos). De aceptar lo solicitado le pido por favor emitir una respuesta al respecto, la misma que es requisito de este proceso, especificándose quién sería el docente que lo co-asesore.

Sin otro particular aprovecho la oportunidad para reiterarle los sentimientos de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente,


DR. AUREO CAMPOS GIL
Director de Escuela de Medicina

C.c. Archivo
ACG/mff

CAMPUS TRUJILLO
Av. Larco 1770,
Tel.: (044) 485 000; Anx.: 7000
Fax: (044) 485 019

fb/ucv_peru
@ucv_peru
#saludcelante
ucv.edu.pe

ANEXO 3

FORMATOS DE ASENTIMIENTO Y CONSENTIMIENTO.



CONSTANCIA DE ASESORIA DE PROYECTO DE TESIS

El que suscribe Blgo. César Wilson Arellano Sánchez, Docente de la Facultad de Ciencias Médicas, Escuela Académico Profesional de Medicina.

CERTIFICA:

Que, de conformidad con el reglamento para elaboración y evaluación de proyectos de Tesis para obtener el Título Profesional de Médico Cirujano, del alumno: Joseph Axel Florián Gómez, de esta casa de estudios, está trabajando bajo mi asesoría el Proyecto de Tesis titulado: "Efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico del Myrciaria Dubia "Camu camu" sobre las cepas de Staphylococcus aureus comparado con Oxacilina".


Que será presentado para optar el Título anteriormente mencionado.

En tal virtud, asumo el asesoramiento de dicho proyecto, en calidad de Co-Asesor TÉCNICO, tarea voluntaria y de cooperación académica con la Escuela de Medicina.

Expedido el presente a solicitud de la parte interesada para los fines académicos que estime conveniente, la ciudad de Chiclayo a los 01 del mes de Marzo del 2018.

BLGO. CÉSAR WILSON ARELLANO SÁNCHEZ

CBP: 8767


César Wilson Arellano Sánchez
BIÓLOGO
C.B.P. 8767

BLGO. CÉSAR WILSON ARELLANO SÁNCHEZ
DNI: 42910566

ANEXO 4
CONSENTIMIENTO INFORMADO
FORMATOS DE ASENTIMIENTO Y CONSENTIMIENTO.

INVESTIGADOR: Joseph Axel Florián Gómez

TÍTULO: “EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *Myrciaria dubia* “Camu camu” SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* COMPARADO CON *Oxacilina*”

A través del presente documento expreso mi voluntad de participación en la investigación titulada “EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *Myrciaria dubia* “Camu camu” SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* COMPARADO CON *Oxacilina*”, habiendo sido informada (o) del propósito de la misma así, como de los objetivos, y teniendo la confianza plena de que información que en el instrumento vierta será solo y exclusivamente para fines de la investigación en mención además confió en que la investigación utilizará adecuadamente dicha información asegurándome la máxima confidencialidad.

Firma del entrevistado
DNI 48485922

ANEXO 5

Tabla 5. Halos de inhibición de las tres cepas de *Staphylococcus aureus*, frente al extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia* “Camu camu”

<i>Staphylococcus aureus</i>					
Cepas	Repeticiones	Concentraciones			
		100	75	50	25
Cepa 1	R1	12	12	9	5
	R2	13	11	10	7
	R3	12	10	8	5
Promedios		12.3	11	09	5.7
Cepa 2	R1	13	14	10	5
	R2	14	12	10	6
	R3	14	10	9	7
Promedios		14.3	12	9.7	06
Cepa 3	R1	13	12	9	5
	R2	12	11	8	5
	R3	13	11	10	6
Promedios		12.7	11.3	09	5.3

Fuente: Instrumento de recolección de datos

ANEXO 6

Tabla 6. Halos de inhibición de las tres cepas de *Staphylococcus aureus*, frente al extracto etanólico de hojas de *Myrciaria dubia* “Camu camu”

<i>Staphylococcus aureus</i>					
Cepas	Repeticiones	Concentraciones			
		100	75	50	25
Cepa 1	R1	15	13	11	11
	R2	14	12	13	12
	R3	14	14	12	09
Promedios		14.3	13	12	10.6
Cepa 2	R1	14	13	13	10
	R2	16	14	12	11
	R3	15	14	12	10
Promedios		15	13.6	12.3	10.3
Cepa 3	R1	14	12	11	10
	R2	12	13	12	9
	R3	13	12	10	9
Promedios		13	12.3	11	9.3

Fuente: Instrumento de recolección de datos

ANEXO 7

Tabla 7: Halos de inhibición de las tres cepas de *Staphylococcus aureus*, frente a la Oxacilina.

<i>Staphylococcus aureus</i>		Oxacilina	
Cepas	Repeticiones	Cáscara	Hojas
Cepa 1	R1	13	13
	R2	14	13
	R3	13	13
Promedios		13.3	13
Cepa 2	R1	10	10
	R2	09	09
	R3	09	10
Promedios		9.3	9.6
Cepa 3	R1	14	13
	R2	14	14
	R3	14	14
Promedios		14	13.6

Fuente: Instrumento de recolección de datos

ANEXO 8

Tabla 7: Halos de inhibición de las tres cepas de *Staphylococcus aureus*, frente a el Agua Destilada.

<i>Staphylococcus aureus</i>		Agua Destilada	
Cepas	Repeticiones	Cáscara	Hojas
Cepa 1	R1	0	0
	R2	0	0
	R3	0	0
Promedios		0.0	0.0
Cepa 2	R1	0	0
	R2	0	0
	R3	0	0
Promedios		0.0	0.0
Cepa 3	R1	0	0
	R2	0	0
	R3	0	0
Promedios		0.0	0.0

Fuente: Instrumento de recolección de datos